

辐射诱变选育中华茉莉新品系

宋 勇¹, 刘和民², 邵云华^{3*}, 宋 涛³, 战 鑫³

¹山东省泰安徂徕山林场, 山东 泰安

²山东省禾苗生物科技有限公司, 山东 济南

³山东农业大学, 山东 泰安

Email: 278542771@qq.com, *shaoyunhua@163.com

收稿日期: 2021年7月5日; 录用日期: 2021年8月10日; 发布日期: 2021年8月20日

摘 要

本研究用 γ 射线(⁶⁰Co)辐射诱变处理“禾苗-1”中华茉莉胚性愈伤, 茎、叶2种材料胚性愈伤诱导, 茎的胚性愈伤诱导率高, 达到100%。愈伤培养42 h胚性细胞分化, 75~99 h胚性细胞大量形成, 为 γ 射线最佳辐射处理时间, 40 Gy辐射剂量较接近半致死剂量。变异体生根试管苗218株, 经田间优选获得1个优系, 暂定名为“禾苗-2”中华茉莉, 连续2 y生长发育检测, 性状稳定, 明显高于亲本和对照。

关键词

中华茉莉, 胚性愈伤组织, 变异体, γ 射线, 半致死剂量

Breeding of New Strains of Chinese Jasmine by Radiation Mutation

Yong Song¹, Hemin Liu², Yunhua Shao^{3*}, Tao Song³, Xin Zhan³

¹Lulai Mountain Forest Farm, Tai'an Shandong

²Shandong Hemiao Biological Technology Co., Ltd., Ji'nan Shandong

³Shandong Agricultural University, Tai'an Shandong

Email: 278542771@qq.com, *shaoyunhua@163.com

Received: Jul. 5th, 2021; accepted: Aug. 10th, 2021; published: Aug. 20th, 2021

Abstract

In this study, γ -ray (⁶⁰Co) radiation mutagenesis was used to treat embryogenic callus of “He Miao-1” Chinese Jasmine. The embryogenic callus of stem and leaf were induced, and the induction rate of embryogenic callus of stem was high, reaching 100%. The callus was cultured for 42 hours

*通讯作者。

of embryogenic cell differentiation, and a large number of embryogenic cells were formed at 75~99 hours. This is the best time for γ -ray radiation treatment, and the 40 Gy radiation dose is close to the half-lethal dose. 218 mutant rooting test-tube seedlings, one superior line was obtained by field optimization, tentatively named "He Miao-2" Chinese Jasmine, and the growth and development test for 2 years continuously showed stable traits, which were significantly higher than that of the parent and the control.

Keywords

Chinese Jasmine, Embryogenic Callus, Variant, γ Rays, Half-Lethal Dose

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

中华茉莉(又名玉玲花),属于安息香科,安息香属(*Styrax linn*)落叶亚乔木,被我国列入珍贵稀有十大乡土树种名录。中华茉莉适生范围广,抗低温,在南方4月中旬开花,北方5月下旬开花;树形优美,盛开繁花似雪,花期时间长,花香怡人,具有很高的观赏价值;中华茉莉具有茉莉香气,又是养蜂产量很高的珍贵蜜源植物,突出特点是黄酮含量高,其花、叶、果均可入药。特别是蜂蜜和蜂蜜酒,即有大健康保健功效,又为我国节约了粮食。主要产品有中华茉莉蜂蜜、酒、精油、茶。十四五农业农村提升,我国急待培育良种种质资源,尽快选育优良品种已成当务之急,“禾苗-1”茉莉即是其中优良品种之一。良种选育有多种方法,辐射诱变是其有效途径[1]之一,国内外育种在植物上已有较多应用,但 γ 射线辐射诱变在林木上相对较少,中华茉莉未见报道。通过 γ 射线高频辐射,诱变处理植物万计细胞个体[3][4],并诱导细胞分化,在培养基上定向选取获得优良变异体,其形成再生植株[2],经大棚、大田不断筛选,培育出中华茉莉优良新品(种)系,丰富我国植物资源新品种。

2. 材料与方法

2.1. 供试材料

“禾苗-1”中华茉莉、对照荣花茉莉(CK),均为中华茉莉组培苗。

2.2. 试验方法

1) 取“禾苗-1”、荣花茉莉(CK)试管苗,分别切取2种试管苗顶芽,接种在MS-2培养基上,pH6.8。设置温度 $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照12L:12D,光照强度2200~3200 Lx。

2) 筛选胚性愈伤诱导材料:“禾苗-1”试管苗。第一步:脱分化愈伤诱导,取叶 $(0.3)^2\text{cm}$ 、茎长0.4 cm分别接种到MS-2培养基上[4],8 d统计出愈率。第二步:愈伤芽分化诱导,待出愈最高,第一步转入MS+5-BA0.3 mg/L+KT0.2 mg/L+IBA0.3 mg/L培养基上诱导,15 d统计出芽率。根据愈伤、分化效果,确定最佳材料进行胚性细胞诱导辐射。

3) 胚性细胞诱导及辐射诱变:取茎段试管苗0.4 cm,先在培养基上进行脱分化,后转分化培养基培养4 d,隔20 h取一次样,用FAA固定,石蜡包埋,0.8 μm 厚度切片。在显微镜下统计胚性细胞数量和发生过程,确定胚性细胞数量最高时间段进行 γ 射线(^{60}Co)辐射处理。辐射剂量为20 Gy、40 Gy、60 Gy、

70 Gy、80 Gy 和 100 Gy (Gy 代表吸收剂量单位), 剂量率为 173.2 Gy/h; 培养 10 d、20 d、30 d、40 d、50 d 分别统计辐射材料发芽率, 确定半致死剂量[5]。

4) 变异体优系组培筛选: “禾苗-1”组培苗辐射处理经脱分化获得的愈伤组织, 转入分化培养基培养后, 25 d 统计愈伤组织分化植株比率, 确定胚性愈伤分化优系单株。

5) 筛选优良变异体单株: 经过组培、大棚连续筛选, 确定优系单株。首先, 选最优系单株组培扩繁, 将室内生长发育最好的苗木筛选初步定为优良变异单株, 后经大棚生长发育, 确定棚内优系单株。

6) 大田进一步检测筛选: 选取经组培、大棚筛选获得的最优系苗木进行一定面积的立地试验, 面积 660.7 m², 品种为“禾苗-2”和“禾苗-1”中华茉莉及对对照品种荣成茉莉。株行距 50 cm × 70 cm。2019~2020 年连续 2 年, 详细观察统计生长情况, 确定中华茉莉生长发育诱变后的性状稳定性。

3. 结果与分析

3.1. 不同材料对愈伤诱导与分化的影响

“禾苗-1”、“荣花”中华茉莉试管苗叶和茎的愈伤诱导率及分化率, 结果见表 1。培养 10 d 后, 愈伤诱导率叶和茎分别为 47% 和 100%; 培养 20 d 后, 愈伤分化率叶和茎分别为 56% 和 100%。茎作为起始诱变处理材料。

Table 1. Comparison of induction and differentiation of calli from different material
表 1. 不同材料愈伤诱导与分化情况比较

材料类型 Type of material	接种数量 Number of materials	10 d 愈伤诱导率(%) Percentage of callus induction within 10 days	开始出愈时间(d) The time of callus forming	愈伤生长情况 Calli growth state	20 d 愈伤分化率(%) Percentage of callus differentiation within 20 days
叶片 Leaf	100	47	8	质硬, 浅绿色 Hard, light green	56
茎段 Stem	100	100	5	饱满有光泽, 绿色 Healthy, glossy and green	100

3.2. 胚性细胞诱导与最佳辐射选择时期

起始诱导材料“禾苗-1”组培苗茎, 在不同的培养基进行脱分化与再分化后对愈伤分化率分别进行比较。经附加 2,4-D 脱分化培养后转入分化培养基上培养组培苗达到 100%, 2,4-D 和 BA 及 KT 浓度对愈伤分化和出芽有一定的影响。“禾苗-1”组培苗茎段脱分化培养 70~100 h 进行分化培养, 培养 42 h 胚性细胞发生, 75 h 产生胚性分生细胞团, 不定芽原基及胚状体产生在 99 h (见图 1)。由此看, 分化培养诱变处理最佳时期在 75~99 h。

3.3. γ 射线辐射剂量对胚性愈伤组织分化率的影响

用 γ 射线辐射处理胚性愈伤组织, 随不同辐射剂量的增加而芽的分化率渐次降低, 如图 2 所示。6 个剂量辐射愈伤处理, 随培养时间延长, 愈伤分化率逐步上升, 42 d 时趋于稳定。从辐射剂量 20 Gy, 到愈伤分化率 100%; 辐射剂量 40 Gy 时, 致死率为 56.7%, 愈伤分化率为 50.9%; 50 Gy、60 Gy 和 70 Gy 剂量时, 致死率分别为 68.7%、81.3% 和 94.6%, 愈伤分化渐次降低为零; 辐射剂量 80 Gy 和 100 Gy 时, 致死率接近 100%。辐射处理存活率接近一半为较理想辐射剂量。因此, 本实验选定的诱变处理辐射剂量为 40 Gy。

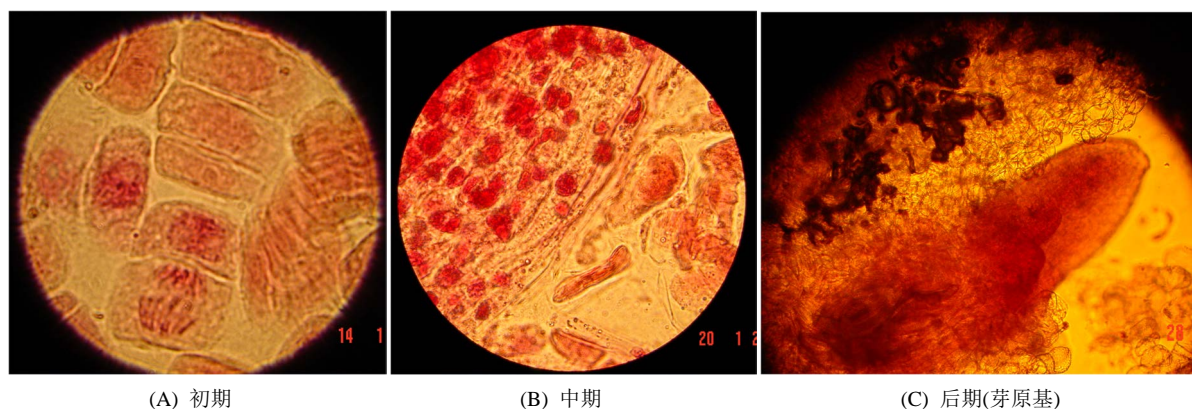


Figure 1. The formation and development of embryonic cells
图 1. 胚性细胞的形成与发育过程

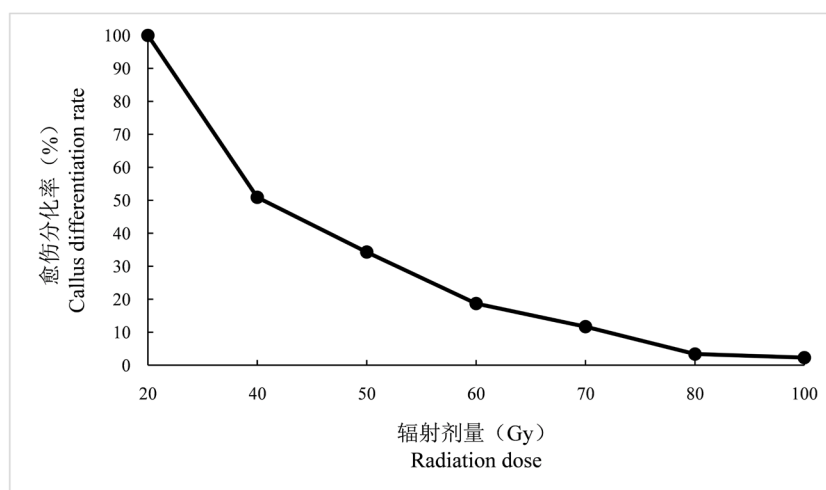


Figure 2. Comparison of calli differentiation rate after γ radiation treatment
图 2. γ 射线不同辐射剂量处理下愈伤分化率的比较

3.4. “禾苗-1” 变异体大棚筛选

试管苗优选获得 218 株，移栽大棚生长后存活 92 株。检测 92 株与对照 92 株比较，平均高度和地茎均明显高于对照，最优株年生长高度为 103 cm，对照 51 cm，高于对照 1 倍。将生长性状最好优系株暂定名为“禾苗-2”中华茉莉。

3.5. “禾苗-2” 试管苗长势检测

“禾苗-2”中华茉莉试管苗长势进行了检测。将“禾苗-2”与“禾苗-1”、“荣花”中华茉莉一起，选取生长一致健壮的试管苗顶芽，分别接种在附加生根培养基上进行长势检测，培养 20 d 后其生根及株高生长情况如表 2。从表 2 所得试验数据经统计分析表明：在附加生根培养基上，“禾苗-2”、“禾苗-1”和“荣花”中华茉莉三者的生根率存在显著差异。“禾苗-2”的生根率显著高于“禾苗-1”和“荣花”中华茉莉。在 3 个参试品种中，“禾苗-2”的生根率最高，“禾苗-1”次之，荣成中华茉莉最低。由此可见，“禾苗-2”的生根能力显著高于其它 2 个参试品种。在附加生根培养基上，“禾苗-2”的株高也显著高于“禾苗-1”和“荣花”中华茉莉。试管苗生根、株高“禾苗-2”均极显著高于其它 2 个参试品种。由此可见，“禾苗-2”具有良好的生长势。

Table 2. Comparison of the growth of Hemiao-2 and various varieties (lines)**表 2.** 禾苗-2 与各品种(系)的长势比较

品种(系) Varieties	时间 (天)	试验指标 Test index				
		生根率 Rooting rate (%)	每株平均生根数 Average number of roots per plantlet	平均根长度 Average length of roots (cm)	平均株高(cm) Average height of plantlets	死苗株数
荣成中华茉莉	5	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0
	15	23	23	1.1	1.0	3
	20	58	58	0.4	2.1	5
	25	78	78	0.4	4.3	9
	30	78	78	0.3	5.0	11
禾苗-1	5	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0
	15	31	31	2.4	1.8	1
	20	67	67	1.9	3.2	3
	25	82	82	1.6	4.6	5
	30	82	82	0.7	5.7	9
禾苗-2	5	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0
	15	52	52	2.8	3.8	0
	20	92	92	2.5	4.9	1
	25	98	98	2.3	6.2	2
	30	98	98	1.6	8.3	2

3.6. “禾苗-2” 大田长势检测

“禾苗-2” 分别在乳山和莱芜内陆和沿海不同气候立地进行试验, 两地种植 2 年后, “禾苗-2” 的平均高度和胸径均高于“荣花”和“禾苗-1”(见表 3)。以上结果表明, 在内陆和沿海不同气候立地上“禾苗-2”的长势明显超过了“禾苗-1”和“荣花”中华茉莉。

Table 3. Comparison of Hemiao-2, Hemiao-1 and Rongcheng Zhonghua Jasmine growth in different sites**表 3.** 禾苗-2 与禾苗-1 和荣成中华茉莉不同立地生长量比较

种植地点 Location	品种(系) Varieties	生长周期 Growth period	土壤 PH	平均胸径(cm) Average diameter	平均高度(m) Average height
莱芜田家林村	威海茉莉	2 年 2 years	7.1	4.02 ± 1.0	3.84 ± 0.7
	禾苗-2			4.91 ± 0.9	4.71 ± 1.0
乳山	禾苗-1	2 年 2 years	6.8	4.36 ± 0.8	4.69 ± 0.9
	禾苗-2			5.41 ± 0.7	5.60 ± 0.8

4. 结论与讨论

1) 辐射育种国内外已有较多研究应用[1], 利用 γ 射线处理个体胚性愈伤细胞[4], 诱发其进行突变, 育种优选培育新品种(系), 能在更短的时间内提高变异频率, 为快速优选植株突变类型奠定了基础。不同

植物器官的愈伤分化有差异, 比较材料中华茉莉茎、叶, 以茎为佳; 细胞诱变处理, 能否形成再生能力的植物胚性细胞和掌控胚性细胞发生及辐射处理的时机是关键[4] [5]。中华茉莉胚性细胞发生较多最佳辐射处理时间段为 75~99 h。

2) 本研究通过 γ 射线辐射诱变处理筛选, 获得生根试管苗 218 株, 大棚炼苗存活 92 株, 选择获得 1 个优系——“禾苗-2”中华茉莉(暂定名)。其生长发育性状明显超过了原“禾苗-1”和对照“荣花”中华茉莉, 经 2 d 大田栽植连续观察, 性状稳定。与本人 2008 年和 2014 年用 γ 射线辐射处理杨树具有一定共性[5] [6], 表明利用 γ 射线辐射细胞, 定向筛选培育优良变异植株是一种较好的育种方法。但其胚性细胞活性再生提高和控制突变方向有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 王长泉, 刘峰, 李雅志. 果树诱变育种的研究进展[J]. 核农学报, 2000, 14(1): 61-64.
- [2] 马惠平, 赵永亮, 杨光宇. 诱变技术在作物育种的应用[J]. 遗传, 1998, 20(4): 617-630.
- [3] 伊虎英, 鱼红斌, 马建中. 利用核技术选育高产优质谷子新品种辐谷 6 号[J]. 核农学报, 2003, 17(2): 141-142.
- [4] 黄建昌, 肖艳. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线与 GA3 复合处理对番木瓜的遗传诱变效应研究[J]. 核农学报, 2003, 17(3): 171-174.
- [5] 邵云华, 杨超, 李增安, 岳红卫, 颜卫东, 刘玉田, 赵双修. γ 射线辐射诱变抗杨白粉病的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2014, 45(2): 171-175.
- [6] 宋学孟, 董举文, 陈丽, 唐寅, 邵云华, 刘德玺. γ 射线辐射诱变培育杨树耐盐新品系[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2008(4): 517-523.